Yasuo MATSUZAWA : Studies on the Interspecific Hybridization in Genus *Brassica*. I. Effects of Temperature on the Development of Hybrid Embryos and the Improvement of Crossability by Ovary Culture in Interspecific Cross, *B. campestris* × *B. oleracea* (English summary on p. 195)

アブラナ属の種間交雑に関する研究

I. *B. campestris* 群×*B. oleracea* 群における雑種胚の発育におよぼす温度の影響と子房培養による交雑成功率の向上

松 澤 康 男

(宇都宮大学農学部, 宇都宮市)

アブラナ属のモノゲノム種間の交雑成功率を高め, より多くの雑種 F_1 植物を得るために, *B. campestris* ($n=10$ 群) と *B. oleracea* ($n=9$ 群) との間で交配を行い, 雑種胚の発育におよぼす温度条件の影響について検討した。

通常の交配の場合では, 莢当りの雑種胚形成率は, 交配 20 日後の調査でみると, 15°C 交配区 (15°C で交配し, そのまま 20 日間経過したもの) よりも 25°C 区の方が高く, 20°C 区は 25°C 区の値に近かった。しかし, いずれの温度区においても, 雑種胚形成率が交配母本によって著しく異なり, 交配温度区間の差異よりも大きい場合もあることから, 両種間における個体レベルでの交雑和合性の存在が示唆された。

交配 5 日後に子房培養を試み, その後 15 日目 (交配 20 日後) に調査したものでも, 25°C の高温条件で交配し, そのまま 5 日間経過させ, さらに 25—20°C (昼一夜) の高温条件で培養したものが, 他の温度条件下のものよりも雑種胚が多く, 胚も大きかった。子房培養 35 日目に調査したのも, 交配時及び子房培養期の温度が高いものほど胚が大きくなり, また未成熟なまま発芽する雑種胚が多くみられた。一方低温条件で培養したものは, 胚としての緩慢な生長が維持され, 完熟胚の方向に発育してゆくものと考えられた。

更に, 子房培養することによって得られた雑種胚を胚培養することによって, これまで報告された結果よりもはるかに高い交雑成功率が得られた。

以上の結果から, 交配時および子房培養期の温度条件が本種間交雑の成功率を左右する 1 つの大きな要因と考えられる。

緒 言

アブラナ属のモノゲノム種間の交雑では, 極めて困難とされている組合せから, 比較的容易なものまであり, また正逆でその成功率が相違するなど, いくつかの問題が残されている。本属の種間交雑は, 本質的には交配に用いられる両種間の遺伝的な交雑和合性によって, その成否が左右されるものと考えられる。しかし, 花粉発芽, 接合子形成, あるいは胚の生長など, 受粉から種子形成にいたるそれぞれの過程での環境要因, 特に温度条件もまた重要な働きをするものと考えられてきた。

OLESSON (1960) や細田 (1961) は, $n=10$ 群と $n=9$ 群との交雑において, 比較的低温下で交配した場合に雑種個体がえられたとしている。西ら (1970) もまた, 最高気温が 18°C 前後であった 4 月に交配したとき, 同 20°C 前後の 5 月の交配よりも雑種胚の摘出率が高かったとしている。さらに皿嶋 (1964, 1973) は, 交配母本を圃場で栽培し, 自然気温の上昇とともに, 植物体が旺盛に生育したものをそのまま母本として交配した場合より, 鉢栽培し, 比較的低温期に交配した場合に

交雑成功率が高かったとし、交配時の温度が交雑の成否に関与することを示唆している。

一方これらの種間交雑は、胚培養の技術を応用することによって、その成功率が大きく高められることを西ら (1959) がはじめて明らかにし、また最近、猪俣 (1975) は、子房培養法を用いて、成功率をさらに高め得たと報告している。

本報告は、アブラナ属の種間交雑による雑種植物を得る過程を解析するための実験の一環として、 $n=10$ 群と $n=9$ 群との交雑において、交配時及び子房培養期の温度条件が、雑種胚の発育にどのような影響をおよぼすかを調査し、これらの結果をもとに、交雑成功率を高めるための方法を検討したものである。

材料および方法

供試材料は、 $n=10$ 群として *B. campestris* ssp. *pekinensis* の栽培品種、無双ハクサイ (C-m) と *B. campestris* ssp. *narinosa* の栽培品種、雪菜 (C-y) を用いた。これらは 1975 年 9 月上旬に圃場に播種し、11 月末、径 24 cm の素焼鉢に鉢上げし、ビニールハウス内で養成した。一方 $n=9$ 群には、*B. oleracea* var. *capitata* の長交弥生カンラン (O-c) を用い、株保存個体の栄養枝のさし芽によって育苗し、11 月上旬鉢上げし、前記 $n=10$ 群と開花期をそろえるため、1976 年 2 月から温室内に移した。

交配は、3 月下旬から 4 月上旬にかけて行い、方法は、1 花穂に 10 花前後の蕾をのこし、交配前日に除雄し、直ちに湿度約 60% に保った 15°C、20°C 及び 25°C の温度調節室 (自然日長) に搬入し、翌朝 9 時に受粉した。

子房培養は、猪俣 (1972) の方法を参考にした。すなわち、上述のようにして交配した子房を、約 1 cm の小花梗をつけて交配 5 日後に切りとり、5% アンチホルミンで振盪しながら滅菌し、数回滅菌水で洗浄した後、WHITE (1963) の基本培地に、Pyridoxine 0.1 mg/l, Thiamine 0.1 mg/l, Niacine 0.1 mg/l, Glycine 3.0 mg/l, Caseinhydrolysate 500 mg/l 及び蔗糖 30 g/l を添加し、pH 5.8 に調整した 0.8% の寒天培地に置床した。培養は、グロースキャビネットを用い、約 10^4 lux, 14 時間日長のもとで、15°-10°C、20°-15°C 及び 25°-20°C (昼-夜) の 3 温度区で行った。

雑種胚の調査は、子房培養を行わなかった通常交配では、交配 20 日後に、子房培養では、培養 15 日後 (交配 20 日後) 及び 35 日後 (同 40 日後) に解剖顕微鏡下で行い、それらの長さはミクロンで表わした。

子房培養によって得られた雑種胚の一部は、交配 50 日後に摘出し、前述と同じ培地上で培養した。胚培養は 15°C の温度調節室で行い、それらが発根し、本葉が数枚展開するのをまって、バーミキュライトに植替し、その後鉢上げし、さらに圃場に移植した。この過程で、雑種植物であるか否かを外部形態ならびに染色体数によって判定した。

実験結果

1. 通常交配における雑種胚の発育におよぼす温度の影響

C-m 及び C-y を各温度区に 5 株ずつ供試し、O-c との間で交配を行い、それぞれの温度区で 20 日間経過させた後に、雑種胚の発育について調査した。その結果は Table 1 のとおりである。また、C-m 及び C-y それぞれの品種内の株間交配における胚の発育についても同様調査し、比較のため Table 2 に表わした。

両品種とも、莢当り 23 個前後の胚珠をもっているが、胚大したものは 10 個程度であり、その数は交配母本間に相違がみられた。20°C 及び 25°C 交配区では、肥大した胚珠が交配 20 以後に褐

Table 1. Effect of temperature on the development of hybrid embryos in the interspecific crosses, *B. campestris* × *B. oleracea*, observed 20 days after pollination

Cross combination	Temp. °C	No. of pods examined	Mean length of pods (mm)	No. of ovules per pod	No. of enlarged ovules per pod	No. of hybrid embryos per pod	Mean length of hybrid embryos (μ)
C-m- 1×O-c	15	20	37.4	23.4	13.6	3.3	63
C-m- 2×O-c	15	20	34.8	22.3	16.3	4.2	60
C-m- 3×O-c	15	20	45.7	23.8	17.7	2.8	60
C-m- 4×O-c	15	20	37.4	46.4	8.3	2.2	83
C-m- 5×O-c	15	20	35.6	22.8	6.8	1.7	75
Total or mean		100	38.2	23.7	12.5	2.8	68
C-m- 6×O-c	20	20	44.9	23.4	12.6	6.0	77
C-m- 7×O-c	20	20	44.8	20.1	10.2	4.0	98
C-m- 8×O-c	20	20	44.3	20.4	10.5	5.2	110
C-m- 9×O-c	20	20	35.2	23.7	7.0	2.3	105
C-m-10×O-c	20	20	31.2	23.3	1.4	0.5	128
Total or mean		100	40.1	22.2	8.3	3.6	105
C-m-11×O-c	25	20	46.0	20.7	10.4	4.1	103
C-m-12×O-c	25	20	50.0	21.2	10.5	5.4	100
C-m-13×O-c	25	20	45.4	21.0	10.8	4.1	95
C-m-14×O-c	25	20	48.4	25.4	9.4	4.2	115
C-m-15×O-c	25	20	41.2	23.9	5.8	2.0	135
Total or mean		100	46.2	22.4	9.4	4.0	110
C-y- 1×O-c	15	20	44.2	21.6	8.7	4.5	155
C-y- 2×O-c	15	20	59.5	23.5	17.2	8.0	158
C-y- 3×O-c	15	20	56.6	21.3	6.5	2.5	140
C-y- 4×O-c	15	20	47.2	23.2	9.0	2.8	110
C-y- 5×O-c	15	20	39.6	26.3	1.3	0	—
Total or mean		100	51.4	23.2	8.5	3.0	140
C-y- 6×O-c	20	20	32.4	23.5	12.0	10.1	160
C-y- 7×O-c	20	20	41.3	22.9	16.0	12.5	243
C-y- 8×O-c	20	20	40.0	25.8	7.1	3.1	248
C-y- 9×O-c	20	20	56.5	24.6	7.7	2.5	148
C-y-10×O-c	20	20	49.8	22.2	7.1	2.6	130
Total or mean		100	44.0	23.8	10.0	6.2	188
C-y-11×O-c	25	20	37.1	21.9	4.2	1.0	143
C-y-12×O-c	25	20	40.3	23.6	12.1	5.6	230
C-y-13×O-c	25	20	34.0	20.4	3.4	1.8	185
C-y-14×O-c	25	20	31.1	24.6	4.6	1.8	158
C-y-15×O-c	25	20	45.9	20.6	14.9	11.7	188
Total or mean		100	37.7	22.2	7.8	4.4	180

Table 2. Effect of temperature on the development of embryos in the sibmates of *B. campestris* observed 20 days after pollination

Cross combination	Temp. °C	No. of pods examined	Mean length of pods (mm)	No. of ovules per pod	No. of enlarged ovules per pod	No. of hybrid embryos per pod	Mean length of hybrid embryos (μ)
C-m×C-m	15	20	51.9	21.8	17.2	8.8	533
	20	20	41.0	19.9	11.6	7.6	705
	25	20	49.1	22.3	12.0	11.8	1725
C-y×C-y	15	20	42.5	23.0	9.0	5.0	335
	20	20	64.6	21.4	19.0	9.8	1620
	25	20	50.5	19.7	10.9	10.2	1346

Table 3. Seeds finally harvested in the interspecific crosses, *B. campestris*×*B. oleracea* pollinated and grown under three levels of temperature

Cross combination	Temp. °C	Flowers pollinated	Pods developed	Seeds obtained	True F ₁ hybrids
C-m- 1×O-c	15	102	91	2	0
C-m- 2×O-c	15	98	82	1	0
C-m- 3×O-c	15	96	77	4	0
C-m- 6×O-c	20	112	101	0	—
C-m- 7×O-c	20	126	94	0	—
C-m- 8×O-c	20	101	81	1	0
C-m-11×O-c	25	90	71	1	0
C-m-12×O-c	25	96	79	2	0
C-m-13×O-c	25	117	87	1	1
C-y- 1×O-c	15	91	76	2	0
C-y- 2×O-c	15	143	126	4	3
C-y- 3×O-c	15	166	134	0	—
C-y- 6×O-c	20	95	88	0	—
C-y- 7×O-c	20	93	79	1	0
C-y- 8×O-c	20	59	44	0	—
C-y-11×O-c	25	59	54	0	—
C-y-12×O-c	25	52	41	1	0
C-y-13×O-c	25	144	124	0	—

変し始め、胚珠内の組織、特に胚乳組織の退化が始まったものと思われた。

肥大した胚珠内で発育している雑種胚は、15°C 交配区ではほとんどが球状胚であったが、20°C 及び 25°C 区ではすでに心臓型期に達したものもみられた。莢当りに観察された雑種胚数は、15°C 交配区に比べて 20°C 及び 25°C 区で多い傾向がみられた。また、品種別には、15 母本の平均でみると、C-m で 3.5 個、C-y で 4.7 個であり、C-y を母本にした場合に若干多かった。いずれの交配温度区においても、供試した 5 個体間の莢当りの雑種胚数に著しい差異がみられ、この個体間差異は交配温度区間の差異よりもむしろ大きかった。

胚の長さは、交配温度が高いときに長くなり、品種別では、C-m より C-y の方が長かった。これらの傾向は、それぞれの品種の株間交配においても認められた。しかし、莢当りの胚の数は種

間交配の場合よりはるかに多く、また胚長も長く、後期魚雷型期のものが多く、整形であることから雑種胚とは明らかに区別できた。

Table 1 に示した C-m-1~3, 6~8, 11~13 及び C-y-1~3, 6~8, 11~13 の各々 3 株を母本として、それぞれの温度下で交配し、莢が成熟するのをまって結莢率と得られた種子数を調査し、Table 3 に示した。両組合せとも 15°C 下で多くの種子が得られた。しかし、それらを播種したところ傾母個体が多く、雑種植物は、C-m-12×O-c 及び C-y-2×O-c でそれぞれ 1 及び 3 個体得られたのみであった。これらの雑種個体は、Table 1 に示したように、莢当りの雑種胚数が比較的多かった株で得られている。

2. 胚の発育におよぼす交配時及び子房培養期の温度の影響

C-m-16~18 及び C-y-16~18 の 6 株を交配母本に用い、それぞれ 15°C, 20°C 及び 25°C の温度区を設け、交配時及びその後の 5 日間を各温度区で経過させた後、子房を培地に置床した。

Table 4. Effect of temperature on the development of hybrid embryos in ovary culture in the interspecific crosses, *B. campestris*×*B. oleracea* observed 20 days after pollination

Cross combination	Temp. °C	No. of pods examined	Mean length of pods (mm)	No. of ovules per pod	No. of enlarged ovules per pod	No. of hybrid embryos per pod	Mean length of hybrid embryos (μ)
	X-Y/Z						
C-m-16×O-c	15-15/10	20	16.7	24.2	4.3	0.7	58
C-m-17×O-c	20-15/10	20	17.2	22.2	4.4	2.0	80
C-m-18×O-c	25-15/10	20	28.0	22.9	4.2	2.5	103
Total or mean		60	20.6	23.1	4.3	1.7	80
C-m-16×O-c	15-20/15	20	17.9	24.9	1.5	0.4	65
C-m-17×O-c	20-20/15	20	26.2	21.6	2.4	0.4	133
C-m-18×O-c	25-20/15	20	26.9	22.8	5.6	2.4	95
Total or mean		60	20.3	23.1	3.2	1.1	98
C-m-16×O-c	15-25/20	20	18.1	26.0	1.7	1.0	63
C-m-17×O-c	20-25/20	20	16.6	21.7	2.0	0.3	100
C-m-18×O-c	25-25/20	20	25.6	22.8	7.6	4.3	105
Total or mean		60	20.0	23.5	3.8	1.9	90
C-y-16×O-c	15-15/10	20	15.8	25.3	2.4	0.4	93
C-y-17×O-c	20-15/10	20	38.7	28.7	9.7	7.6	163
C-y-18×O-c	25-15/10	20	33.1	24.5	3.2	1.8	115
Total or mean		60	29.2	26.2	5.1	3.3	123
C-y-16×O-c	15-20/15	20	16.0	21.7	2.7	1.3	145
C-y-17×O-c	20-20/15	20	36.1	26.9	10.5	8.1	248
C-y-18×O-c	25-20/15	20	28.9	23.8	5.0	3.9	175
Total or mean		60	27.0	24.1	6.1	4.4	190
C-y-16×O-c	15-25/20	20	17.5	21.4	3.6	2.7	210
C-y-17×O-c	15-25/20	20	40.0	29.3	15.6	11.8	228
C-y-18×O-c	25-25/20	20	32.4	23.4	8.5	5.8	213
Total or mean		60	30.0	24.7	9.2	6.8	218

* X-Y/Z means that the plants were kept at X°C at pollination time and for the following 5 days, and the ovary culture was carried out in the chambers at Y°C in the day time and Z°C at night.

Table 5. Effect of temperature on the development of embryos in ovary culture in the sibmate crosses of *B. campestris* ssp. *narinosa* cv. Yukina observed 20 days after pollination

Cross combination	Temp. °C	No. of pods examined	Mean length of pods (mm)	No. of ovules per pod	No. of enlarged ovules per pod	No. of hybrid embryos per pod	Mean length of hybrid embryos (μ)
	X-Y/Z						
C-y×C-y	15-15/10	20	21.8	22.0	3.3	1.8	85
C-y×C-y	20-15/10	20	30.1	24.9	4.5	3.5	213
C-y×C-y	25-15/10	20	28.4	22.4	2.5	1.7	235
Total or mean		60	26.8	23.1	3.4	2.3	178
C-y×C-y	15-20/15	20	23.0	23.7	3.1	1.9	815
C-y×C-y	20-20/15	20	31.4	25.6	2.7	2.1	1025
C-y×C-y	25-20/15	20	28.2	22.8	2.5	1.8	1430
Total or mean		60	27.5	24.0	2.8	1.9	1090
C-y×C-y	15-25/20	20	22.1	21.5	2.5	1.8	1115
C-y×C-y	20-25/20	20	27.8	21.3	4.3	3.2	865
C-y×C-y	25-25/20	20	28.8	20.1	2.7	2.0	1820
Total or mean		60	26.2	21.0	3.2	2.3	1268

* X-Y/Z means that the plants were kept at X°C at pollination time and for the following 5 days, and the ovary culture was carried out in the chambers at Y°C in the day time and Z°C at night.

Table 6. Effect of temperature on the development of hybrid embryos in ovary culture in the interspecific crosses, *B. campestris*×*B. oleracea* observed 40 days after pollination

Cross combination	Temp. °C	No. of pods examined	Mean length of pods (mm)	No. of ovules per pod	No. of enlarged ovules per pod	No. of hybrid embryos per pod(**)	Mean length of hybrid embryos (μ)
	X-Y/Z						
C-m-16×O-c	15-15/10	20	20.7	23.8	3.8	1.7(0.2)	398
C-m-17×O-c	20-15/10	20	18.5	20.4	2.7	0.8(0)	415
C-m-18×O-c	25-15/10	20	26.7	23.0	4.7	3.5(0.5)	710
Total or mean		60	22.0	22.4	3.7	2.0(0.2)	508
C-m-16×O-c	15-20/15	20	16.5	22.9	1.0	0.6(0.2)	1050
C-m-17×O-c	20-20/15	20	18.7	21.6	2.5	1.1(0.2)	1058
C-m-18×O-c	25-20/15	20	26.6	22.4	5.6	5.0(2.0)	1243
Total or mean		60	20.6	22.3	3.0	2.2(0.8)	1118
C-m-16×O-c	15-25/20	20	17.8	24.4	3.6	2.8(1.0)	918
C-m-17×O-c	20-25/20	20	18.6	22.8	2.8	2.1(0.7)	1078
C-m-18×O-c	25-25/20	20	27.1	23.7	10.5	9.1(4.9)	1420
Total or mean		60	21.1	23.6	5.5	4.7(2.2)	1138
C-y-16×O-c	15-15/10	20	17.6	22.2	2.0	1.1(0)	313
C-y-17×O-c	20-15/10	20	33.8	29.7	11.2	8.7(0.8)	410
C-y-18×O-c	25-15/10	20	35.1	23.1	5.7	3.2(1.1)	1113
Total or mean		60	28.8	25.0	6.3	4.3(0.6)	618
C-y-16×O-c	15-20/15	20	16.0	21.3	3.4	2.2(0.3)	548
C-y-17×O-c	20-20/15	20	36.2	28.6	12.3	9.6(0.5)	475
C-y-18×O-c	25-20/15	20	33.9	25.3	8.6	6.4(1.6)	790
Total or mean		60	28.7	25.1	8.1	6.1(0.8)	605
C-y-16×O-c	15-25/20	20	19.2	21.6	5.0	3.4(0.5)	820
C-y-17×O-c	20-25/20	20	36.3	28.2	14.1	11.4(1.1)	568
C-y-18×O-c	25-25/20	20	33.4	24.6	10.4	7.0(1.8)	848
Total or mean		60	29.6	24.8	9.8	7.3(1.1)	745

* X-Y/Z means that the plants were kept at X°C at pollination time and for the following 5 days, and the ovary culture was carried out in the chambers at Y°C in the day time and Z°C at night.

** No. of germinated embryos per pod.

各温度区の材料を3つに分け、それぞれの温度に調節されたグロースキャビネットで子房培養を行った。培養15日後に、雑種胚の形成について調査した結果はTable 4のとおりである。母本のC-yで株間交配したものの子房培養の結果も、比較のため調査し、Table 5に示した。

胚大した胚珠数は、C-yを母本にした場合、いずれの交配温度区でも、培養温度が高いと多くなる傾向がみられたが、C-mを母本にした場合では、交配時の温度が25°Cの場合にこの傾向がみられた。莢当りの雑種胚数は、培養しなかったものに比べて一般的に少ない傾向がみられた。また培養温度が高いと雑種胚が多くなる傾向がみられたが、C-mを母本にした場合では顕著ではなかった。胚の大きさは、両組合せとも培養しなかったものと大差なく、交配時及び子房培養期の温度の影響は、C-yを母本にした場合に顕著で、培養温度が高まるにつれて大きくなる傾向がみられた。

一方、品種内の株間交配したものの子房培養では肥大した胚珠数及び胚数ともに種間交配の場合よりもむしろ少なかったが、胚ははるかに大きく、発育程度も雑種胚より進んでおり、15°C区で交配したものでは魚雷型胚が、また20°及び25°C区では、すでにWalking stick型に進んだ胚が多く、培養期の温度が高くなるにつれて、そのステージがさらに進む傾向がみられた。

子房培養35日後に胚の生長を前述15日後と同様調査し、Table 6に示した。莢の長さは、培養15日後の調査結果(Table 4)と差が少ないことから、培養15日間ではほぼその生長を終了するものとみられた。また肥大した胚珠数も培養15日後の結果によく対応した。しかし、雑種胚数は多くなり、培養しなかった場合の数値(Table 1)に等しいか、あるいはそれより高い値を示した。雑種胚は子房培養15日後から35日後にかけて急速に伸長し、すでに発芽し始めるものもみられ、これらは交配時及び培養温度が高いほど多い傾向であった。

3. 子房培養によって得られた雑種胚の胚培養

前述のように、異なった温度条件下で交配し、子房培養して得られた雑種胚を交配50日後に摘出し、胚培養を行い、雑種F₁植物の育成をはかった。その結果をTable 7に示した。両組合せにおいて傾母植物と思われるものが数個体得られたがTable 7から除外した。

莢当りの摘出胚(胚長250 μ 以上の雑種胚)数は、C-mを母本にした場合では、交配時及び子房培養期の温度が高いほど多く得られた。一方C-yを母本にした場合では、交配時の温度が高いときに、摘出胚数が多い傾向がみられたが、培養温度の影響は顕著でなかった。また、Table 4及びTable 6に示すように、子房培養における雑種胚形成率は、非結球性のC-yを母本にしたとき、結球性のC-mを母本にした場合より高い傾向がみられたが、雑種胚の摘出率はC-mの方が高かった。

摘出し、胚培養した雑種胚数に対して得られた雑種F₁植物の割合は、C-yを母体にした場合では、交配時及び子房培養期の温度が高い区ほど高かった。しかし、C-mを母体にした場合では、低温下で交配した場合のみその割合が高かったが、培養温度の影響はそれ程顕著ではなかった。

C-m $\times$ O-c及びC-y $\times$ O-cの両組合せにおいて、全体で、170及び230個の培養子房から、それぞれ71及び84の雑種F₁植物が得られ、莢当りの割合ではいずれも40%前後になった。その割合は、交配時及び子房培養期の温度が高い区ではさらに高まり、例えば25°~25°/20°C区では、45個の培養子房から31個体の雑種植物が得られた。また、これらの雑種F₁植物は、すでに未成熟なまま発芽した雑種胚を胚培養したものから多く得られた。

考 察

B. campestris $\times$ *B. oleracea* の交雑組合せにおいて、BECKER (1952) 及び HOFFMAN & PETERS

Table 7. Effect of temperature on the development of hybrid embryos and F_1 plants in the interspecific crosses, *B. campestris* × *B. oleracea* by means of ovary culture followed by embryo culture technique

Cross combination	Temp. °C	No. of ovaries cultured (A)	No. of embryos extracted (B)	No. of true F_1 hybrid (C)	B/A × 100	C/A × 100	C/B × 100
	X-Y/Z						
C-m-19 × O-c	15-15/10	20	0	0	0	0	—
C-m-20 × O-c	20-15/10	15	7	2	47	13	29
C-m-21 × O-c	25-15/10	20	45	11	225	55	25
Total		55	52	14	95	25	27
C-m-19 × O-c	15-20/15	18	3	1	17	6	33
C-m-20 × O-c	20-20/15	21	46	10	219	48	22
C-m-21 × O-c	25-20/15	20	68	11	340	55	16
Total		59	117	22	198	37	19
C-m-19 × O-c	15-25/20	17	11	6	65	35	55
C-m-20 × O-c	20-25/20	20	72	14	360	70	19
C-m-21 × O-c	25-25/20	19	102	16	537	84	16
Total		56	185	36	330	64	19
Total		170	345	71	208	42	20
C-y-19 × O-c	15-15/10	30	11	1	37	3	9
C-y-20 × O-c	20-15/10	26	68	14	262	54	21
C-y-21 × O-c	25-15/10	20	18	4	90	20	22
Total		76	97	19	128	25	20
C-y-19 × O-c	15-20/15	28	7	1	25	4	14
C-y-20 × O-c	20-20/15	25	46	13	184	52	28
C-y-21 × O-c	25-20/15	21	15	7	71	33	47
Total		74	68	21	92	28	31
C-y-19 × O-c	15-25/20	28	21	8	75	29	38
C-y-20 × O-c	20-25/20	26	48	21	185	81	44
C-y-21 × O-c	25-25/20	26	24	15	92	58	63
Total		80	93	44	116	55	47
Total		230	258	84	112	37	33

* X-Y/Z means that the plants were kept at X°C at pollination time and for the following 5 days, and the ovary culture was carried out in the chambers at Y°C in the day time and Z°C at night.

(1958) は、比較的低温な温室で交配した場合に 雑種種子が得られることを報告し、このことは他の研究者によって経験されてきたことである。本実験でも、通常の交配によって得られた雑種植物は、C-m を母本にした場合では、25°C 区の交配で1個体得られたのみで、C-y を母本にした場合では、15°C 区の交配で3個体得られた。しかし、雑種胚の形成について交配 20 日後の調査では、15°C の低温条件で交配した場合、雑種胚の形成率が低下する傾向がみられ (Table 1), また胚の発育も高温区に比較して緩慢であることが判明した。

一方、種属間交配における花粉管伸長について、HINATA ら (1974) は *Diplotaxis mularis* を交配母本として用いた場合、交雑和合性の高低と花粉管伸長の良否とは一致しなかったと報告している。また MATSUZAWA (1977) は、*B. campestris* × *B. oleracea* において、交配時の温度条件は花粉

の発芽と花粉管伸長の遅速に作用するが、15°C、20°C 及び 25°C ではそれらを阻害する現象は認め得なかった。さらに CHANG ら (1976) は、*Allium cepa* において、交配時の不適当な温度条件は雌性配偶子の体細胞分裂を阻害すると推察している。このようなことから、アブラナ属の *campestris* 群と *oleracea* 群との組合せでは、交配時並びに雑種胚の発育期を低温条件で経過させることが、幼胚の発育に必ずしも好適な条件とは考えられなかった。しかし、C-y を母本にした場合の種子形成の結果や過去の研究者たちの結果からみて、低温条件は、ある程度までに生長した雑種胚が種子にいたる過程において、高温条件よりもむしろ好適であるように思われる。

雑種種子形成率の母本間差異については、すでに水島 (1952) や OLSSON (1960) などによっても報告されている。また西ら (1970) も、雑種胚の摘出率に母本間差異があることを認めている。MATSUZAWA (1977) は、交配 24 時間後に花粉管が胚珠周辺まで到達する割合を調査したところ、15°C での交配では母本間に差異をみたが、20°C 及び 25°C 区ではほとんど認め得なかった。雑種胚の形成率の母本間差異は本実験においても各温度区にみられた。このようなことから、母本間差異は、単に花粉発芽や花粉管伸長の遅速によるものではなく、受精及び雑種幼胚の発育、あるいはそれらの崩壊の相違によるのではないかと考えられる。

西ら (1970) は、結球性のハクサイを交配母本として用いたとき、他の非結球性品種との組合せより摘出できる雑種胚が少なく、また得られた雑種 F₁ 植物も少なかったと報告している。このことは、本実験での C-m と C-y との間にみられる莢当りの雑種胚数や、さらに、わずかながら得られた雑種種子の差異からも推論できる。しかし、C-m と C-y との間にみられる O-c (*B. oleracea*) との交雑和合性の相違は、雑種胚の形成率でみた場合、それほど大きなものとは考えられず、むしろ C-m 及び C-y 内にみられる個体間差異がより大きいものとも考えられる (Table 1)。

子房培養による雑種胚の形成率は、培養 15 日後の調査でみるかぎり、培養しなかったものより低かった。しかし、培養 35 日後の調査では形成率が高まり、子房培養しなかったもの (Table 1) との間に差がみられなくなった (Table 6)。このことは、子房培養することによって雑種胚の形成率が低下したのではなく、雑種胚の生長が緩慢なため、培養 15 日後の調査では見出し得ない幼胚 (長さ約 50 μ 以下) が相当数あったことによると考えられる。

INOMATA (1976) は、*B. campestris ssp. chinensis* の雪白体菜の株間交配したものを子房培養し、莢当りの着粒率と得られた種子の発芽率を調査して、17°C~27°C の比較的広範囲にわたって適温がみられることを報告している。本実験で明らかになった雑種幼胚の発育におよぼす温度条件の影響の調査結果と考え合せると、本実験で用いた交配時及び子房培養期のそれぞれ 3 つの温度範囲よりいくぶん高い温度条件で、雑種胚の形成率を高め得るのではないかと考えられる。しかし、交配後の 20 日前後の時期から起る胚珠組織の崩壊退化の現象が高温下でとくに促進される傾向がみられた。このようなことから、高温条件下での子房培養は、雑種胚の未成熟なままの発芽をたすけ、発芽的な生長を促進するが、一方完熟胚への発達を抑制することとなるので、結果的には完全な雑種種子が得がたくなるものと考えられる。

交雑成功率の向上について、西ら (1970) は、雑種胚が崩壊退化する前に摘出し、胚培養することによって、交配花数の 7.3% という従来より高い値を得ている。また、NAMAI (1971) は接木法によって、7.1% という値をえている。本実験での成功率は、子房培養した莢当りの数から換算すると約 40% に相当する。これらの交雑成功率の相違は、交配母本の違いや温度などの外的要因によるものと考えられるが、子房培養の効果もみのがし得ないものと考えられる。

前述のように、子房培養によって得られる雑種胚は、未成熟なまま発芽するものが多かったが、それらの多くは胚培養を併用することによって F₁ 植物まで育成することができた。また、子

房培養によって得られた雑種胚は、培養しなかったものより発育がよく、胚培養する場合には、前述の未成熟のまま発芽しはじめた胚同様、肉眼で摘出及び培養操作をすることが可能である。したがって、子房培養法は、大量の F_1 植物を育成するためには、作業能率からも好ましいものと思われる。

以上の結果からみて、猪俣 (1972) が提唱した子房培養法は、*B. campestris* × *B. oleracea* の種間交雑における成功率を高めるためには有効な手段のひとつと考えられる。また、その成功率をさらに高めるために、子房培養と胚培養を併用し、そして交配時並びに子房培養期の温度条件を制御することによって、より健全な雑種胚をつくり得ることが指摘できよう。

謝 辞

本実験の遂行にあたり、宇都宮大学農学部、皿嶋正雄教授と東北大学農学部、日向康吉助教授に御指導と御助言をいただいた。また、子房培養法については、岡山大学教養部、猪俣伸道助教授に御教示いただいた。ここに感謝の意を表する。

引用文献

- BECKER, T. 1952. Siebenjährige blütenbiologische Studien an den Cruciferen *Brassica napus* L., *B. oleracea* L., *Raphanus* L. und *Sinapis* L. II. Zschr. f. Pflanzenzücht. **31**: 72~103.
- CHANG, W. and B. E. STRUCKMEYER 1976. Influence of temperature on seed development of *Allium cepa* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci. **101**: 296~298.
- HINATA, K., N. KONNO and U. MIZUSHIMA 1974. Interspecific crossability in the tribe *Brassicaceae* with special reference to the self-incompatibility. Tohoku J. Agr. Res. **25**: 58~66.
- HOFFMANN, W. and R. PETERS 1958. Versuche zur Herstellung synthetischer und semisynthetischer Rapsformen. Züchter **28**: 40~51.
- 細田友雄 1961. アブラナ属内のゲノム合成によるナブス型作物の育成に関する研究. 東教大農紀要 **7**: 1~94.
- 猪俣伸道 1972. *Brassica* における子房の人工培養. III. 種間雑種育成と培地の検討. 育雑 **22** (別2): 34~35.
- 1975. 子房培養による *Brassica* 属の種間雑種形成と種々の培地組成について. 育雑 **25** (別2): 80~81.
- INOMATA, N. 1976. Culture *in vitro* of excised ovaries in *Brassica campestris* L. I. Development of excised ovaries in culture media. Japan. J. Breed. **26**: 229~236.
- MATSUZAWA, Y. 1977. Pollen germination and pollen tube growth at different pollination temperatures in interspecific crosses in the genus *Brassica*. I. Cross pollination between *B. campestris* and *B. oleracea*. Bull. Coll. Agr. Utsumomiya Univ. **10**: 1~10.
- 水島宇三郎 1952. アブラナ類の核遺伝学的研究. 技報堂, 東京. p. 66.
- NAMAI, H. 1971. Studies on the breeding of oil rape (*Brassica napus* var. *oleifera*) by means of interspecific crosses between *B. campestris* and *B. oleracea* or the treatment of sugar solution. Japan. J. Breed. **21**: 40~48.
- 西 貞夫・川田稷一・戸田幹彦 1959. はい培養による *Brassica* 属の C ゲノム (かんらん類) と a ゲノム (はくさい類) との種間雑種育成について. 育雑 **8**: 215~222.
- ・戸田幹彦・豊田 努 1970. アブラナ科そ菜のはい胚養に関する研究. III. はい培養によるハクサイ類ほかとカンラン類の種間雑種育成に関する試験. 園試報 A **9**: 75~100.
- OLSSON, G. 1960. Species crosses within the genus *Brassica*. II. Artificial *Brassica napus* L. Hereditas **46**: 351~386.
- 皿嶋正雄 1964. 創成ナブスの育種学的研究, 第1報. *B. campestris* 群と *B. deracea* 群との雑種とその次代植物. 育雑 **14**: 227~237.
- 1973. 飼料用創成ナブスの育成に関する研究. 宇都宮大農学報 特 **29**: 1~117.

Summary

In a study on mono-genomic interspecific hybridization and its improvement of crossability in genus *Brassica*, effects of temperature on the development of hybrid embryos

were investigated *in vivo* and in culture *in vitro* of excised ovaries.

In the experiment were used *B. campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson cv. Musō-hakusai and ssp. *narinosa* (Bailey) Olsson cv. Yukina as female plants. *B. oleracea* L. var. *capitata* L. cv. Chōkōyayoi-kanran was used as a male plant.

Pollination was done at 15°C, 20°C and 25°C. Ovaries were cultured at 15°C/10°C, 20°C/15°C and 25°C/20°C (day/night), respectively.

The development of hybrid embryos *in vivo* was observed 20 days after pollination. Wide variation between female plants in the formation of hybrid embryos was observed. Development of the embryos was faster at high temperatures (20°C and 25°C) than at low temperature (15°C).

Ovaries were excised 5 days after pollination and cultured *in vitro*. The medium was composed of the solution of minerals (WHITE 1963), WHITE's vitamins, 500 mg/l of Casein hydrolysate, 30 g/l sucrose and 8 g/l agar. Ovaries were cultured in ca. 10⁴ lux by fluorescent light for 14 hours a day.

Development of embryos at 15°C/10°C was slower than that at 20°C/15°C and 25°C/20°C. Developmental stage of the hybrid embryos ranged from the globular-shaped to the torpedo-shaped stage. Forty days after pollination, the precocious germination of hybrid embryos was observed at 25°C—25°C/20°C (the female plants were kept at 25°C at the pollination time and for the following 5 days, and the ovary culture was carried out in the chamber at 25°C in the day time and 20°C at night).

Ovary culture at high temperatures (20°C/15°C and 25°C/20°C) followed by embryo culture is a promising method for the formation of interspecific hybrids in *B. campestris* × *B. oleracea*. In order to obtain interspecific hybrids, the ovary culture method proposed in INOMATA (1972) was confirmed to be effective.

Production of hybrid plants by ovary culture depends on the temperature at pollination and during subsequent culture.

Y. MATSUZAWA

Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya 320